한국동물분류학회지 제13권 제1호
***The Korean Journal of Systematic Zoology***
*Vol. 13, No. 1: 9-20 (March 1997)*

# 한국산 송사리속 2종의 유전적 변이 및 종분화

민 미 숙
(인하대학교 이과대학 생물학과)

## 적 요

한국산 송사리(*Oryzias*)속의 송사리(*O. latipes*)와 대륙송사리(*O. sinensis*)의 집단내 유전적 변이 및 종간 유연관계를 밝히고자 남한의 16개집단과 일본산 송사리(*O. latipes*) 1개집단 등 총 17개집단에 대한 isozyme분석을 실시하였다. Isozyme분석 결과 17개의 효소 및 비효소단백질에서 총 32개의 유전자를 검출한 결과, 전체 유전자중 *Est*-1과 *Est*-3는 종 특유의 유전적 표식인자(genetic marker)였다. 송사리집단 중 진도집단의 유전적 변이가 가장 낮았으며(Ho=0.011, He=0.043), 대륙송사리 서천집단의 유전적 변이가 가장 높았다(Ho=0.114, He=0.124). 한국산 송사리 11개 집단의 평균 유전적 변이 정도는 P=12.7%, Ho=0.029, He=0.042, 대륙송사리 5개 집단의 평균 유전적 변이정도는 P=26.3%, Ho=0.082, He=0.097로 각각 나타나 대륙송사리집단의 유전적 변이 정도가 송사리집단에 비해 약 2.5배정도 높았고 일본산 송사리의 유전적 변이 정도는 P=15.6%, Ho=0.073, He=0.068로 나타났다. 한국산 송사리와 일본산 송사리와의 유연관계는 S=0.761(D=0.243)로 나타나 유전적으로 뚜렷한 별개의 분류군으로 생각되며, 대륙송사리와 송사리간의 종간 유전적 근연치는 S=0.648(D=0.389)로 일반적인 척추동물의 종간의 유전적 분화 수준을 나타냈다.

Key words: *Oryzias*, electrophoresis, genetic variation, genetic differentiation, speciation

## 서 론

송사리속(*Oryzias*)어류는 소형담수어류로서 한반도, 일본, 중국대륙 및 대만 등 아시아지역에 넓게 분포하는 어종으로 12종이 보고되어 있다(Uwa and Magtoon, 1986). 특히 송사리(*O. latipes*)는 크기가 작으며 세대가 짧아서 실험실내에서의 사육

* 본 연구는 1993년도 인하대학교 박사후연구비지원에 의해 수행된 것임

이 손쉽고 또한 연중 채란이 가능하여 종분화 연구에 필요한 여러 생물학적 분석 방법의 실험재료로 많이 사용하고 있는 종이다. 한국산 송사리의 경우 종전에는 1종으로 알려져 왔으나 Sakaizumi와 Jeon(1987), Uwa와 Jeon(1987)은 isozyme분석과 핵형분석을 통하여 한반도에는 서한집단과 동한집단의 송사리등 2개 group이 존재함을 보고한 바 있다. 또한 Kim과 Lee(1992)는 형태분석과 핵형분석을 통하여 동해로 유입하는 하천과 남해의 도서지방 송사리집단은 송사리(*O. latipes latipes*)로 서남해로 유입하는 하천에 분포하는 송사리는 중국산 *O. latipes sinensis*와 같다하여 송사리의 아종인 대륙송사리로 보고한 바 있으며, 그 후 Kim과 Kim(1993)은 실험실 내에서의 교잡실험을 통하여 이들을 별종으로 간주하면서 송사리는 *Oryzias latipes*로 대륙송사리는 *Oryzias sinensis*로 표기하였다.

본 연구는 한반도에 분포하고 있는 송사리(*Oryzias latipes*)집단과 대륙송사리(*O. sinensis*) 집단의 종내 유전적 변이 및 종간의 유전적 분화정도를 밝히고자 isozyme분석을 실시하였고 아울러 일본산 송사리(*Oryzias latipes*)집단을 비교종으로 사용하여 종분화과정도 논의하였다.

## 재료 및 방법

본 실험에 사용한 실험재료는 Table 1과 같다.

**Table 1.** Collection localities, date, and number of specimens of 2 species of the genus *Oryzias*.

| Collection Localities | No. of Specimens | Collection Date |
|---|---|---|
| *O. latipes* | | |
| 1. Kangnung: Kangnung-shi, Kangwon-do | 20 | Aug. 30. 1993 |
| 2. Yongchong: Chayang-myon, Yongchon-gun, Kyongsangbuk-do | 20 | Nov. 02, 1992 |
| 3. Yongdok: Chuksan-myon, Yongdok-gun, Kyongsangbuk-do | 20 | Nov. 16, 1992 |
| 4. Chinyang: Ibansong-myon, Chinyang-gun, Kyongsangnam-do | 20 | Nov. 02, 1992 |
| 5. Yochon: Dolsan-up, Yochon-gun, Chollanam-do | 9 | May 06, 1993 |
| 6. Yongam: Yongam-up, Yongam-gun, Chollanam-do | 14 | May 04, 1993 |
| 7. Sachon: Sachon-up, Sachon-gun, Kyongsangnam-do | 15 | May 06, 1993 |
| 8. Kori: Changan-up, Yangsan-gun, Kyongsangnam-do | 20 | Mar. 27, 1997 |
| 9. Koje: Koje-up, Koje-gun, Kyongsangnam-do | 19 | Mar. 26, 1994 |
| 10. Chindo: Chindo-up, Chindo-gun, Chollanam-do | 20 | Mar. 25, 1994 |
| 11. Chido: Chido, Shinan-gun, Chollanam-do | 20 | Sep. 03, 1994 |
| *O. sinensis* | | |
| 12. Sochon: Maso-myon, Sochon-gun, Chungchongnam-do | 20 | May o6, 1993 |
| 13. Nonsan: Yangchon-myon, Nonsan-gun, Chungchomgnam-do | 10 | Oct. 28, 1992 |
| 14. Kochang: Hungduk-myon, Kochang-gun, Chollabuk-do | 10 | Oct. 29, 1992 |
| 15. Inchon: Yonsu-dong, Inchon | 20 | Apr. 08, 1994 |
| 16. Kanghwa: Hajom-myon, Kangwha-gun, Inchon | 20 | Apr. 09, 1994 |
| *O. latipes* | | |
| 17. Japan: Yaegasa Ota-City, Gunma Prefecture | 12 | Jul. 17, 1994 |

전기영동방법은 Buth(1986) 및 Yang과 Min(1990)의 방법으로 어체의 근육을 1g 정도 적출하여 D.W와의 비율을 1:0.8정도로 하여 glass homogenizer로 마쇄하고 저온원심분리기를 이용 18,000rpm으로 30분동안 원심분리하여 상층액을 추출, 전기영동 시료로 사용하였다. 전기영동은 Tris citrate(pH 8.0), LiOH(pH 8.1), Poulik(pH 8.2), Tris malic(pH 7.4) buffer 등을 사용하여 12% starch gel 전기영동을 실시하였다. 전기영동 조건은 Table 2와 같다. 전기영동 후 얻어진 각 효소 및 비효소단백질의 전기영동상을 이용하여 각 개체별 유전자형을 확인하고 BIOSYS-1 program(Swofford and Selander, 1981)을 이용하여 각 집단의 대립인자빈도(allele frequency), 평균다형형빈도(% polymorphism) 및 이형접합자빈도(heterozygosity)값을 구하여 각 집단의 유전적 변이 정도를 구하였다(Selander, 1976). 각 집단간 유전적 근연관계는 Rogers (1972)의 유전적 근연치(S)와 Nei(1972)의 유전적 차이치(D)를 구한 다음 UPGMA 방법(Sneath and Sokal, 1973)으로 dendrogram을 작성하여 비교 검토하였다.

**Table 2.** Buffer systems and stains for electrophoresis.

| Buffer System | E. C. No. | Enzyme | Volt/Time |
|---|---|---|---|
| T.C II | 2. 7. 4. 3 | Adenylate Kinase(Ak-1,2) | 100V/3hrs |
| | 2. 7. 3. 2 | Creatine kinase(Ck-1,2,3) | |
| | 1. 1. 99. 5 | α-Glycerphosphate dehydrogenase(αGpd-1,2) | |
| | 1. 1. 1. 42 | Isocitrate dehydrogenase(Idh) | |
| | 1. 1. 1. 27 | Lactate dehydrogenase(Ldh-1, 2) | |
| | 1. 1. 1. 37 | Malate dehydrogenase(Mdh-1, 2, 3) | |
| | 2. 6. 1. 1 | Glutamate oxaloacetate transaminase(Got-1) | |
| Poulik | 4. 2. 1. 3 | Aconitase(Aco) | 200V/3hrs |
| | 1. 1. 1. 40 | Alchol dehydrogenase(Adh) | |
| | 1. 9. 3. 1 | Indophenol oxydase(Ipo) | |
| LiOH | 3. 1. 1. 1 | Esterase(Est-1, 2, 3) | 250V/3hrs |
| | | General protein(Gp-1, 2, 3, 4) | |
| | 3. 4. 11. 11 | Peptidase(Pept-1, 2) | |
| | 5. 3. 1. 9 | Phosphoglucose isomerase(Pgi-1, 2) | |
| T.M | 2. 6. 1. 1 | Glutamate oxaloacetate transaminase(Got-2) | 100V/5hrs |
| | 1. 1. 1. 40 | Malic enzyme(Me-1, 2) | |
| | 1. 1. 1. 44 | 6 Phosphgluconate dehydrogenase(6Pgd) | |

## 결 과

한국산 송사리속 어류 2종에 대한 isozyme분석 결과 17개의 효소 및 비효소단백질에서 총 32개의 유전자를 검출하였고 각 유전자에 대한 대립인자빈도를 구한 결과는 Table 3과 같다. 총 32개의 유전자중 8개의 유전자(25%)는 송사리와 대륙송사리 2종 모두가 동일한 대립인자로 변이가 전혀 없었다.

**Table 3.** Allele frequencies of 2 species of the genus *Oryzias*.

| | | *O. latipes* | | | | | | | | | | | *O. sinensis* | | | | | *O. l*(Jap) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Locus | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| IDH | a | | | | ,050 | | | | | | | | | | | | | |
| | b | 1.000 | .625 | 1.000 | .950 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .675 | .800 | .350 | | | |
| | c | | | | | | | | | | | | | | | | | 1.000 |
| | d | | .375 | | | | | | | | | | .325 | .200 | .650 | 1.000 | 1.000 | |
| PGM | a | | | | | | | | | | | | | | | .100 | .025 | |
| | b | 1.000 | 1.000 | .850 | 1.000 | 1,000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .800 | 1.000 | | | .600 | .650 | .450 | |
| | c | | | .150 | | | | | | | .050 | | 1.000 | 1.000 | .400 | .250 | .525 | 1.000 |
| | d | | | | | | | | | | .150 | | | | | | | |
| CK-1 | a | | | | | | | | | | | | | | | | .875 | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .124 | 1.000 |
| CK-2 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| CK-3 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .975 | 1.000 |
| | b | | | | | | | | | | | | | | | | .025 | |
| AK-2 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| MDH-1 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| MDH-2 | a | | | | | | | | .025 | | | | | | | .050 | | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .975 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .950 | 1.000 | 1.000 |
| MDH-3 | a | .875 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .925 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| | b | .125 | | | | | | | | | | .075 | | | | | | |
| LDH-1 | a | | | | | | | | | | | | | | | | | .083 |
| | b | 1.000 | .775 | 1.000 | .975 | .778 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | | | .075 | | .833 |
| | c | | .225 | | .025 | .222 | | | | | | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .925 | 1.000 | .083 |
| LDH-2 | a | | | | | | | | | | .250 | | | | | | | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .750 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| PGI-1 | a | | | | | | | | | | | | .025 | | | | | |
| | b | | | | | | | | | | | | .125 | .200 | | | | |
| | c | 1.000 | .775 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .475 | .400 | .750 | | | |
| | d | | .225 | | | | | | | | | | .375 | .400 | .250 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| Pgi-2 | a | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| 6PGD | a | | | | | .111 | | | | .184 | | | | | | | | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .778 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .816 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| | c | | | | | .111 | | | | | | | | | | | | |
| GOT-1 | a | | | | | .056 | | | | | | | | | | | .050 | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .944 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .763 | 1.000 | 1.000 | .850 | .600 | 1.000 | 1.000 | .950 | 1.000 |
| | c | | | | | | | | | .237 | | | .150 | .400 | | | | |
| GOT-2 | a | | .175 | | | | | | | | | | .250 | .100 | .300 | 1.000 | 1.000 | |
| | b | | | | 1.000 | .444 | .964 | 1.000 | .900 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .750 | .900 | .700 | | | .583 |
| | c | 1.000 | .825 | 1.000 | | .556 | .036 | | .100 | | | | | | | | | .417 |
| EST-1 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | | | | | |
| | b | | | | | | | | | | | | .975 | 1.000 | 1.000 | .900 | 1.000 | |
| | c | | | | | | | | | | | | .025 | | | .100 | | |

**Table 3.** Continued

| Locus | | *O. latipes* | | | | | | | | | | | *O. sinensis* | | | | | *O. l*(Jap) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| EST-2 | a | | | | | | | | | | | | .050 | .100 | .100 | | | |
| | b | | .175 | | | | | | | | | | .070 | .550 | | .275 | .100 | |
| | c | | .225 | | | | | | | | | | .250 | .350 | .900 | .725 | .900 | |
| | d | 1.000 | .600 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | | | | | 1.000 |
| EST-3 | a | | | | | | | | | | | | | | | | | .250 |
| | b | | | | | | | | | | | .150 | | | | | | .233 |
| | c | | .250 | | .675 | | | .033 | .050 | | | .350 | | | | | | |
| | d | | | | | | | | | | | | | | | | | .417 |
| | e | 1.000 | .700 | 1.000 | .325 | 1.000 | .929 | .967 | .950 | 1.000 | 1.000 | .500 | | | | | | |
| | f | | .050 | | | | .071 | | | | | | | | | | | |
| | g | | | | | | | | | | | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | |
| ADH | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| IPO | a | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | b | .975 | .825 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .964 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .175 | .150 | | .025 | | 1.000 |
| | c | .025 | .175 | | | | .036 | | | | | | .825 | .850 | 1.000 | .975 | 1.000 | |
| GP-1 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| GP-2 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| GP-3 | a | .975 | .825 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .964 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .175 | .150 | | .025 | | 1.000 |
| | b | .025 | .175 | | | | .036 | | | | | | .825 | .850 | 1.000 | .975 | 1.000 | |
| GP-4 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| ACO | a | | | | | | .071 | .067 | | | | | .025 | | | | | |
| | b | | .175 | .100 | 1.000 | 1.000 | .929 | .267 | | .395 | 1.000 | 1.000 | .950 | 1.000 | .850 | 1.000 | 1.000 | .542 |
| | c | 1.000 | .775 | .900 | | | | .667 | 1.000 | .605 | | | .025 | | .150 | | | .458 |
| | d | | .050 | | | | | | | | | | | | | | | |
| aGPD1 | a | | | | | | | | | | | | .100 | .450 | | | | |
| | b | | | | | | | | | | | | .600 | .400 | .550 | | | |
| | c | | | | | | | | | | | | | | | 1.000 | 1.000 | |
| | d | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .889 | .929 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .300 | .150 | .450 | | | |
| | e | | | | | .111 | .071 | | | | | | | | | | | 1.000 |
| aGPD2 | a | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| PEPT1 | a | | | | | | | | | | | 1.000 | | | | | | |
| | b | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .964 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | 1.000 | | .300 | .075 | .875 | 1.000 |
| | c | | | | | | | | | | | | | .700 | .600 | | | |
| | d | | | | | | .036 | | | | | | | .300 | .100 | .925 | .125 | |
| PEPT2 | a | | .050 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | b | .575 | .950 | 1.000 | .150 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | | .211 | .675 | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .850 | .025 | |
| | c | .425 | | | .850 | | | | 1.000 | .789 | .325 | | | | | .150 | .975 | |
| | d | | | | | | | | | | | 1.000 | | | | | | 1.000 |
| ME-1 | a | | | | .050 | 1.000 | .571 | | | | | | | | | | | |
| | b | .775 | 1.000 | 1.000 | .950 | | .429 | .200 | .800 | 1.000 | .900 | 1.000 | .372 | .250 | .150 | .700 | 1.000 | |
| | c | .225 | | | | | | .800 | .200 | | .100 | | .625 | .750 | .850 | .300 | | .917 |
| | d | | | | | | | | | | | | | | | | | .083 |
| ME-2 | a | .750 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | .900 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| | b | .250 | | | | | | | | | | .100 | | | | | | |

송사리 11개 집단의 경우 *Idh, Pgm, Mdh-2, Mdh-3, Ldh-1, Ldh-2, Pgi-1, 6Pgd, Got-1, Got-2, Est-2, Est-3, Ipo, Gp-3, Aco, aGpd-1, Pept-1, Pept-2, Me-1, Me-2*등 20개 유전자(62.5%)에서 변이를 나타내었다. *Pgi-1, Est-2*는 영천집단에서만, *Ldh-2*는 진도집단, *Mdh-2*는 고리집단에서만 변이를 보였고 *Mdh-3*와 *Me-2*는 강릉과 지도집단에서만, *6Pgd, Got-1*은 여천과 거제집단에서만 변이를 나타냈다. 영천집단의 경우는 두종간 빈도상의 차이를 보이는 유전자중 *Idh, Ldh-1, Got-2, Ipo, Pgi-1, Est-2, Gp-3*에서 대륙송사리가 나타내는 주대립인자를 평균 20%정도 공유하고 있었으며, *Ldh-1*은 진양과 여천집단에서, *Gp-3*는 강릉, 영암집단에서 대륙송사리의 대립인자를 일부 공유하고 있었고 진양, 사천, 거제, 진도, 지도집단의 *Got-2*유전자는 전개체가 모두 대륙송사리의 대립인자(*Got-2*$^{b}$)를 가진 것으로 나타나 나머지 집단과 차이를 보였다. 일본집단의 경우 *Idh, Pgi-1, aGpd-1, Pept-2* 유전자에서 한국의 송사리집단과 대립인자상에 뚜렷한 차이를 보였으며 *Idh*$^{c}$, *Ldh-1*$^{a}$, *Est-3*$^{a}$, *Me-1*$^{d}$는 일본집단 고유의 대립인자였다.

대륙송사리 5개집단의 경우는 *Idh, Pgm, Ck-1, Ck-3, Mdh-2, Ldh-1, Pgi-1, Est-1, Est-2, Got-1, Got-2, Gp-3, Ipo, Aco, aGpd-1, Pept-1, Pept-2, Me-1*에서 변이를 보였으며 이 중 *Est-2* 유전자는 5집단 모두에서 변이를 나타내었다. *Idh, Pgi-1, Got-2, aGpd-1, Me-1* 등 5개유전자의 경우 인천과 강화집단은 변이를 모두 나타낸 나머지 3개집단과 대립인자빈도상에 뚜렷한 차이를 보였으며 *aGpd*의 경우 *aGpd*$^{c}$는 인천과 강화 두집단 고유의 대립인자였다. *Gp-3*의 경우 변이를 보인 서천, 논산, 인천집단은 송사리집단이 갖고있는 주대립인자(*Gp-3*$^{a}$)를 이형접합자상태(*Gp-3*$^{ab}$)로 모두 가지고 있어 강릉, 영천, 영암의 송사리집단이 대륙송사리의 주대립인자(*Gp-3*$^{b}$)를 갖고있는 현상과 동일하였다. *Pept-1*의 경우 서천집단은 *Pept-1*$^{a}$인자로 변이가 없었으나 나머지집단은 변이가 있었으며 집단간 주대립인자빈도 차이를 보였다.

전체 유전자 중 *Est-1*과 *Est-3*은 두종간에 완전히 다른 대립인자로 종특유의 유전적 표식인자로 확인되었으며 *Ldh-1, Est-2, Gp-3, aGpd* 등도 주대립인자빈도 차이를 보여 종간 특징을 나타내었다.

Table 3의 대립인자빈도를 이용하여 각 집단 및 종간 변이정도를 구한 결과는 Table 4와 같다. 송사리 11개집단의 경우 영천집단의 유전적 변이가 P=31.3%, Ho=0.081, He=0.112로 가장 높았고, 영덕집단이 유전적 변이가 가장 적게 나타났으며(P=6.3%, Ho=0.013, He=0.014), 송사리의 평균 유전적 변이 정도는 P=12.8%, Ho=0.029, He=0.042로 나타났다. 대륙송사리 5개집단의 경우 강화집단의 유전적 변이가 가장 낮았으며, 평균 유전적 변이정도는 P=26.3%, Ho=0.082, He=0.097로 송사리집단보다 약 2.5배정도의 많은 유전적 변이를 갖고 있었다. 일본산 송사리의 유전적 변이는 P=15.6%, Ho=0.073, He=0.068이였다.

대립인자빈도를 이용하여 각 집단 및 종간의 유전적 근연치(S)와 유전적 차이치(D)를 구한 결과는 Table 5와 같다. 송사리의 경우 동해안의 강릉집단과 영덕집단의 유전적 근연치가 S=0.959(D=0.011)로 가장 가깝게 나타났고, 영천집단과 지도집단의 유연관계는 S=0.825(D=0.140)으로 가장 멀게 나타났다. 송사리 11개 집단간의

평균 유전적 근연치는 $\bar{S}$=0.905($\bar{D}$=0.065)였다. 대륙송사리 5개집단의 평균 유전적 근연치는 $\bar{S}$=0.838($\bar{D}$=0.120)로 근연관계가 낮게 나타났다. 한국산 송사리와 대륙송사리간의 종간 평균 유전적 근연치는 $\bar{S}$=0.648($\bar{D}$=0.389)로 종간 차이를 보였으며, 일본집단은 한국산 송사리와 대륙송사리와의 평균 유전적 근연관계가 각각 $\bar{S}$=0.761 ($\bar{D}$=0.243), $\bar{S}$=0.648($\bar{D}$=0.393)로 지리적 차이를 보였다.

Table 5의 유전적 근연치를 토대로 dendrogram을 작성한 결과는 Fig. 1과 같다. 송사리집단과 대륙송사리집단은 S=0.648에서 뚜렷하게 두 group으로 나눠져 유집되었으며 대륙송사리의 경우 강화.인천집단은 충청도이남의 3집단과 S=0.797에서 분리되어 종내 집단간 유연관계가 멀게 나타났다. 일본의 송사리집단도 한국산 송사리집단과 S=0.761에서 grouping되어 지리적 차이를 나타냈다.

**Table 4.** The degree of genic variations of 2 species of the genus *Oryzias*.

| | Mean No. of alleles per locus(A) | % of loci polymorphic (P) | Heterozygosity Observed (Ho) | Expected (He) |
|---|---|---|---|---|
| *O. latipes* | | | | |
| 1. Kangnung | 1.2 | 12.5 | 0.023 | 0.049 |
| 2. Yongchon | 1.4 | 31.3 | 0.081 | 0.112 |
| 3. Yongdok | 1.1 | 6.3 | 0.013 | 0.014 |
| 4. Chinyang | 1.2 | 12.5 | 0.022 | 0.030 |
| 5. Yochon | 1.2 | 15.6 | 0.038 | 0.050 |
| 6. Yongam | 1.3 | 12.5 | 0.022 | 0.038 |
| 7. Sachon | 1.1 | 6.3 | 0.023 | 0.028 |
| 8. Kori | 1.1 | 9.4 | 0.014 | 0.021 |
| 9. Koje | 1.1 | 12.5 | 0.011 | 0.043 |
| 10. Chindo | 1.2 | 12.5 | 0.011 | 0.043 |
| 11. Chido | 1.1 | 9.4 | 0.036 | 0.030 |
| *O. sinensis* | | | | |
| 12. Sochon | 1.5 | 31.3 | 0.114 | 0.124 |
| 13. Nonsan | 1.4 | 31.3 | 0.113 | 0.135 |
| 14. Kochang | 1.3 | 28.1 | 0.091 | 0.114 |
| 15. Inchon | 1.3 | 25.0 | 0.062 | 0.071 |
| 16. Kanghwa | 1.3 | 15.6 | 0.031 | 0.043 |
| *O. latipes* | | | | |
| 17. Japan | 1.2 | 15.6 | 0.073 | 0.068 |

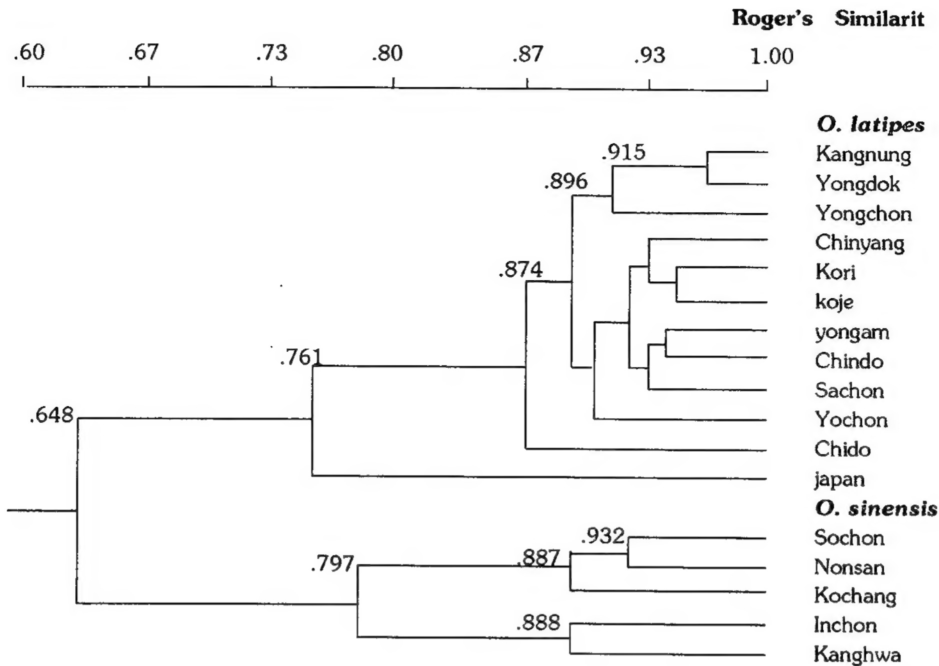



**Fig. 1.** Dendrogram of the genus *Oryzias* in Korea and Japan based on Roger' s(1972) genetic similarity coefficients (S).

## 고 찰

송사리속(*Oryzias*)어류는 동남아시아 일대에 분포하는 소형어류로서 담수역과 기수역에서 생활하는 어종이다(Yamamoto, 1975; Kawanabe and Mizuno, 1989). Uwa(1986)는 송사리속 어류의 핵형을 분석한 결과 monoarmed chromosome group, biarmed chromosome group, fused chromosome group 등 3개 group으로 구분하여 보고한 바 있으며, 이들의 지리적 분포상황은 계에 따른 지형적인 영향 및 지사변천과 밀접한 관계가 있다고 시사한 바 있다(Magtoon and Uwa, 1985; Uwa and Parenti, 1988; Uwa *et al.*, 1988; Uwa, 1991).

송사리(*O. latipes*)는 biarmed chromosome group에 속하는 종으로(Uwa, 1986; Kim and Moon, 1987) 한반도와 인근인접국가인 일본, 중국대륙에도 분포하고 있다. Sakaizumi와 Jeon(1987)은 isozyme 분석결과 한국산 송사리집단은 유전적으로 차이가 있는 2개의 group이 있음을 확인하고 이를 동한집단과 서한집단으로 구분하였으며 서한집단은 중국집단과 같은 group이며 동한집단과 일본집단은 각각 별개의 group으로 분류하였다. Uwa와 Jeon(1987), Kim과 Moon(1987)은 한국산 송사리 두 group에 대한 핵형분석을 실시하여 동한집단의 송사리는 2n=48, 서한집단송사리는 2n=46으로 차이가 있음을 밝혔다. 또한 Kim과 Lee(1992)는 Chen 등(1989)의 일본, 중국, 한국집단에 대한 핵형분석과 한국산 송사리에 대한 형태와 핵형분석 결과를 토대로 동한집단송사리는 *Oryzias latipes latipes*(송사리)로, 서한집단송사리는 중국산

*O. l. sinensis*와 같다하여 송사리의 아종으로 기록하면서 대륙송사리로 명명한 바 있으며 Kim과 Kim(1993)은 실험실내의 인위적 교잡실험을 통해 송사리와 대륙송사리를 별종으로 간주하였다.

한국산 송사리속 2종(송사리, 대륙송사리)은 본 isozyme분석에서 *Est-1*과 *Est-3*유전자가 종을 구별할 수 있는 유전적 표식인자(genetic marker)로 확인되었으며, Sakaizumi와 Jeon(1987), Sakaizumi(1986) 등이 유전적 표식인자로 간주한 *Pgm, Pgi-1, Ldh-1* 등의 유전자는 송사리와 대륙송사리 2종 사이에 대립인자를 공유하는 개체들이 발견되어 종특유의 유전인자는 아닌것으로 확인되었으나 각각의 주대립인자의 빈도에는 뚜렷한 차이가 있었다. 또한 *Est-2, Ipo, Gp-3* 유전자도 대립인자빈도상으로 두종을 구분할수 있는 유전자였다. *Pgm, Ldh-1, Gp-3*에서 나타난 변이개체들은 송사리와 대륙송사리의 주대립인자들의 제 1대 잡종에서 나타낼수 있는 이형접합자 형태를 나타내므로 $F_1$개체나 $F_2$이상의 개체로 간주할수 있으나 다른 두 표식인자들에서 잡종형성이 안된점과 두종간에 차이를 나타내는 유전자(*Pgm, Ldh-1, Ipo, Gp-3*)상에 $F_1$개체들이 전혀 없는 점들로 보아 두종사이의 잡종보다는 동일 대립인자를 공유한다고 사료된다.

한국산 송사리속 2종의 유전적 변이정도(Table 3)는 동해안과 남해안에 분포하는 송사리집단의 평균 유전적 변이정도가 $\bar{H}o$=0.029, $\bar{H}e$=0.042로 다른 어류의 평균 유전적 변이 정도보다 낮게 나타났고(Nevo, 1978), 영천집단을 제외한 나머지집단(H=0.011-0.036)은 한국산 납자루아과(Yang, 1983)나 왜몰개를 제외한 피라미아과어류(Yang and Min, 1989)의 유전적 변이와 유사하였다. 대륙송사리의 경우는 평균유전적 변이정도가 $\bar{H}o$=0.082, $\bar{H}e$=0.097로 한국산 *Cobitis*속 어류 6종과 *Nemacheilus, Niwaella, Lefua*속 어류, *Anguilla*속 2종의 평균 유전적 변이와 유사하였고(Yang *et al.*, 1991; Min and Yang, 1993) 다른 어류의 평균 유전적 변이정도 값과 유사하였다(Avise and Selander, 1972; Avise, 1976; Nevo, 1978). 한국산 대륙송사리의 유전적 변이정도는 송사리의 평균 유전적 변이 보다 약 2.5배이상 높은 것으로 나타나 종간 차이를 보였다. 이런 유전적 변이는 일반적으로 생물집단의 크기와 안정성, 서식공간의 크기, 유전적 부동, 생태적 환경의 영향, 분화시기 등 다양한 요인들에 의하여 유전적 변이축적에 영향을 미친다고 볼 수 있는데(Soule, 1971, 1976; Valentine, 1976; Stonecking *et al.*, 1981), 집단이 크고 안정되어 있으며 분화된 시기가 오래된 집단 또는 종일수록 그 유전적 변이의 정도가 높게 나타나는 것이 일반적인 현상이다. 이런 관점에서 본다면 동해안과 남해안지역에 분포하는 송사리집단은 비교적 서식공간이 협소하고 환경조건이 불안정하여 병목현상과 유전적 부동현상으로 인하여 대륙송사리집단에 비하여 유전적 변이가 낮은 것으로 추정되며 이점에 대하여는 앞으로 면밀한 연구가 요구된다.

*Oryzias*속 어류의 기본 핵형수는 2n=48이며 2n=46을 가진 일부의 종들은 Robertsonian fusion에 의한 핵형진화로 추정된 바 있으며(Uwa *et al.*, 1981; Magtoon and Uwa, 1985; Uwa, 1986), Chen 등(1989)은 일본과 중국대륙에 있는 송사리의 핵형을 비교한 결과 중국송사리는 2n=46, 일본송사리는 2n=48로 차이가 있고, 한반도에서는 2n=46(대륙송사리) 및 48개(송사리)의 2가지 핵형을 갖는 것으로 보고된 바 있다(Uwa and Jeon, 1987; Kim and Lee, 1992). 또한 Uwa(1986)는 일본지역에 분포하는 송사리에 대한 유전적인 분석을 통해 크게 북일본집단과 남일

본집단으로 나눴으며 중간 group으로 잡종집단도 시사한바 있다. 한편 Uwa(1986), Sakaizumi와 Jeon(1987)은 일본, 한국, 중국에 분포하는 송사리를 독특한 유전적 구성을 가진 북일본집단, 남일본집단, 동한집단, 중국-서한집단 등 4개의 별개 group으로 구분한 바 있으며 이러한 분류, 분포는 환경적인 영향과 지사학적인 배경이 크게 작용하였으리라고 생각되며, 남방계 기원인 송사리는 2n=48개의 염색체를 가진 조상종이 고황하수계로 부터 중국과 한반도의 서해로 진출하는 과정에서 2n=46개의 염색체를 가지는 중국-서한집단의 송사리로 핵형진화가 이루어져서 현재의 분포양상을 나타내는 것으로 보며, 동해안과 일본에 분포하는 집단은 기본적인 핵형을 가진 집단이 핵형의 진화없이 지리적 조건(태백산맥, 대한해협 등)에 의해 서해안 집단과는 유전적으로 차이가 있는 고유한 집단으로 분포된 것으로 추정된 바 있다(Uwa, 1986; Uwa and Jeon, 1987; Kim and Lee, 1992). 이러한 여러가지 견해를 종합해 본다면 한국, 중국, 일본지역에 분포하는 송사리의 경우는 2n=48개의 핵형을 가진 조상종으로 부터 1차적으로 염색체돌연변이에 의한 종분화가 이루어진 집단이 중국내륙과 한반도 서해안 지역에 분포하게 되고, 그후 2차적으로 조상종으로부터 염색체에는 변화가 없이 유전적으로 분화된 새로운 집단이 한반도 동해안과 일본지역으로 각각 분포되면서 지리적인 격리현상과 환경적인 영향에 의해 각 집단의 독자적인 유전적 조성이 형성되면서 현재의 분포양상을 이루었다고 생각된다. 한반도의 송사리와 대륙송사리는 유전적 근연관계가 S=0.648로서 중간 수준의 차이를 나타내고 핵형이나 형태상으로도 뚜렷한 종수준의 차이가 있는 분류군으로 인정된다. 결론적으로 한국산 송사리와 대륙송사리는 핵형이나 isozyme, 형태적차이 등으로 볼때 아종의 관계가 아닌 별종으로 추정하는 것이 타당하리라고 생각되며, 그 중 동해안 및 남해안에 분포하는 한국산 송사리는 일본산 송사리와 유전적으로 뚜렷한 차이가 있는 별개의 종으로 사료되므로 학명사용을 포함한 종문제에 대한 종합적인 검토가 수행되어야 할것이다.

## 참고문헌


Avise, J. C., 1976. Genetic differentiatin during speciation, *In*: Molecular Evolution (Ayala, F. J., ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 106-122.

Avise, J. C. and R. K. Selander, 1972. Evolutionary genetics of cavedwelling fishes of the genus *Astyanax*. Evolution, **26**: 1-9.

Buth, D.G., 1986. Locus nomenclature and enzyme staining procedures for teleost fishes. (personal description)

Chen, Y. R., H. Uwa, and X. L. Chu., 1989. Taxonomy and description of the genus *Oryzias* in Yunnan, China. Acta Zootaxonomica Sinica, **14**: 239-246.

Kawanabe, H. and N. Mizuno, 1989. Freshwater Fishes of Japan. Yama-Kei Publ. Co. Tokyo, Japan. pp. 47-51. (in Japanese)

Kim, I. S. and K. C. Moon, 1987. The karyotype of a ricefish, *Oryzias latipes* from southern Korea. Korean J. Zool., **30**: 379-386. (in Korean)

Kim, I. S. and E. H. Lee, 1992. New record of the ricefish, *Oryzias latipes sinensis*(Pisces, Oryzidae)

from Korea. Korean J. Syst. Zool., **8**: 177-182. (in Korean)

Kim, I. S.and S. Y. Kim, 1993. Interspecific hybridization between *Oryzias sinensis* and *O. latipes* from Korea. Korean J. Ichthyology, **5**: 113-121. (in Korean)

Magtoon, W. and H. Uwa, 1985. Karyotype evolution and relationship of a small ricefish, *Oryzias minutillus*, from Thailand. Proc. Japan Acad., **61B**: 157-160.

Min, M. S. and S. Y. Yang, 1993. Isozymes and mtDNA analyses of 2 species of the genus *Anguilla*(Pisces, Anguillidae). Korean J. Zool. **36**: 545-555. (in Korean)

Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. Am. Nat., **106**: 283-292.

Nevo, E., 1978. Genetic variation in natural populations: patterns and theories. Theor. Popul. Biol., **13**: 121-177.

Rogers, J.S., 1972. Measure of genetic similarity and genetic distance. Studies in Genetics VII. Univ. Texas Publ. **7213**: 145-153.

Sakaizumi, M., 1986. Genetic divergence in wild populations of Medaka, *Oryzias latipes* (Pisces: Oryziatidae) from Japan and China. Genetica, **69**: 119-125.

Sakaizumi, M. and S. R. Jeon, 1987. Two divergent groups in the wild populations of Medaka *Oryzias latipes* (Pisces: Oryziatidae) in Korea. Korean J. Limnol., **20**: 13-20.

Selander, R.K., 1976. Genic variation in natural populations. *In*: Molecular Evolution (Ayala, F.J., ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 21-45.

Sneath, P. H. A. and R.R.Sokal, 1973. Numerical taxonomy. W. H. Freeman Co., San Francisco.

Soule, M., 1971. The variation problem: the gene flow variation hypothesis. Taxon, **20**: 37-50.

Soule, M., 1976. Allozyme variation: its determinants in space and time, *In*: Molecular Evolution (Ayala, F.J., ed.). Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, Massachusetts, pp. 60-77.

Stoneking, M., D. J. Wagner, and A. C. Hildebrand, 1981. Genetic evidence suggesting subspecific differences between northern and southern populations of brook trout(*Salvelinus fontinalis*). Copeia, **1981**: 810-819.

Swofford, D. L. and R. B. Selander, 1981. BIOSYS-1: A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. J. Hered., **72**: 281-283.

Uwa, H., 1986. Karyotype evolution and geographical distribution in the ricefish, genus *Oryzias* (Oryziidae), Indo-Pacific fish Biology: Proceedings of the second international conference on Indo-Pacific Fishes(Ueno, T., R. Arai, T. Taniuchi, and K. Matsuura, eds.). **1986**: 867-876.

Uwa, H., 1991. Cytosystematic study of the Hainum Medaka, *Oryzias curvinotys*, from Hong Kong. Ichthyol. Explor. Freshwaters, **1**: 361-367.

Uwa, H., T. Iwamatsu, and Y. Ojima, 1981. Karyotype and banding analyses of *Oryzias celebensis* (Oryziatidae, Pisces) in cultured cells. Proc. Japan Acad., **57B**: 95-99.

Uwa, H. and S. R. Jeon, 1987. Karyotypes in two divergent groups of a ricefish, *Oryzias latipes*, from Korea. Korean J. Limn. **20**: 139-147.

Uwa, H. and W. Magtoon, 1986. Description and karyotype of a new ricefish, *Oryzias mekongensis* from Thailand. Copeia, **1986**: 473-478.

Uwa, H. and L. R. Parenti, 1988. Morphometric and meristic variation in ricefish, genus *Oryzias*: a comparison with cytogenetic data. Japan. J. Ichthyology, **35**: 159-166.

Uwa, H., R. Wang, and Y. Chen, 1988. Karyotype and geographical distribution of ricefishes from

Yunnan, Southwestern China. Japan. J. Ichthyology, **35**: 332-340.

Valentine, J. W., 1976. Genetic strategies of adaptation, *In*: Molecular Evolution (F. J. Ayala, ed.). Sinauer Assoc. Massachusetts. pp.78-94.

Yamamoto, T., 1975. Medaka(Killifish):Biology and Strains. Keigaku Publ. Co., Tokyo.

Yang, S. Y., 1983. Genic variation in natural populations of the subfamily Acheilognathinae (Cyprinidae) in Korea. Ann. Rep. Biol. Res., Jeonbuk Nat'l. Univ. **4**: 11-19. (in Korean)

Yang, S. Y., H. Y. Lee, H. J. Yang, and J. H. Kim, 1991. Systematic study on the fishes of the family Cobitidae (Pisces, Cypriniformes) I. Geographic variation of *Nemacheilus toni*, *Lefua costata* and *Niwaella multifasciata*. Korean J. Zool. **34(1)**: 110-122. (in Korean)

Yang, S. Y. and M. S. Min, 1989. Evolutionary study on the Dark Chub(*Zacco temmincki*) IX. Phylogeny of the subfamily Danioninae(Pisces, Cyprinidae). Korean J. Zool. **32**: 393 403. (in Korean)

Yang, S. Y. and M. S. Min, 1990. Genetic variation and systematics of the sticklebacks(Pisces, Gasterosteidae) in Korea. Korean J. Zool. **33**: 499-508. (in Korean)

RECEIVED: 7 March 1997
ACCEPTED: 7 May 1997

## Genetic Variation and Speciation of 2 Species of the Genus *Oryzias* (Pisces, Adrianichthyidae) in Korea

**Mi-Sook Min**
(Dept. of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea)

### ABSTRACT

Isozyme analysis was performed to estimate the genic variation and genetic differentiation between *Oryzias latipes* and *O. sinensis* of the genus *Oryzias* inhabiting in Korea and Japan. 32 presumptive loci from 17 isozymes and general proteins were screened and analysed. *Est-1* and *Est-3* were genetic markers to discriminate between 2 species of the genus *Oryzias*. The average degree of genic variation of *O. latipes* and *O. sinensis* was $\bar{P}$=12.7%, $\bar{Ho}$=0.029, $\bar{He}$=0.042, and $\bar{P}$=26.3%, $\bar{Ho}$=0.082, $\bar{He}$=0.097, respectively. *O. sinensis* was highly variable than *O. latipes*. The genetic similarity between Korean and Japanese populations of *O. latipes* was S=0.761(D=0.243) and it seems to be genetically two distinct taxa. The average genetic similarity of *O. latipes* and *O. sinensis* was S=0.648(D=0.389).